

## *Rhodotorula muciliginosa* G-1에서 생산되는 biosurfactant의 정제 및 물리적 성질

이철수 · 이병옥 · 강상모\*  
건국대학교 공과대학 미생물공학과

### Purification and Physical Properties of Biosurfactant Produced from *Rhodotorula muciliginosa* G-1

Chul-Su Lee, Byung-Ok Lee and Sang-Mo Kang\*

Department of Microbiological engineering, Konkuk University, Seoul 133-070, Korea

**Abstract** — The surface tension-decreasing biosurfactant was purified from *Rhodotorula muciliginosa* G-1. The purification procedure was the solvent extraction of culture broth. To ensure complete extraction, the sample was extracted twice with equal volume of ethylacetate. The crude solution was washed with n-hexane to remove unconsumed soybean oil. The crude sample of biosurfactant was applied to Silica gel column chromatography equilibrated with chloroform, and eluted with chloroform : methanol gradient. Several solvent system was used to develop the thin layer chromatography (TLC). The purified biosurfactant sample gave one spot (Rf 0.78). It was estimated that biosurfactant was glycolipid about having M.W.1,500 with standard of polyethyleneglycol by Sephadex LH-20 column chromatography.

미생물이 생산하는 biosurfactant 중 대부분을 차지하는 glycolipid는 화학구조적인 측면에서 shingoglycolipid, phytoglycolipid, glyceroglycolipid, 그 외의 shingosine, glycerin을 갖지 않는 glycolipid 등의 4가지로 분류할 수 있는데 이러한 glycolipid로는 rhamnolipid, trehalose dimycolate, trehalose tetraester, sucrose와 fructose lipids, mannosyl-erythritol lipids 등이 알려져 있다(1).

1949년 Jarvis 등(1)은 *Pseudomonas aeruginosa* No.145, No.142가 생산하는 항미생물활성을 갖는 계면활성물질 형태의 glycolipid를 연구하여 이 물질이 rhamnose와  $\beta$ -hydroxydecane이 ester 결합한 glycolipid인 rhamnose lipid-II임을 밝혔다. Hisatsuka 등도 탄화수소 자화성을 갖는 *Pseudomonas aeruginosa*의 탄화수소 자화성을 연구하여 이것 역시 Jarvis가 이미 발견했던 rhamnolipid-II인 것을 밝혀냈다(1). Suzuki 등(3)은 탄화수소 자화성 미생물로부터 생리활성물질의 연구과정에서 *Athrobacter*, *Brevibac-*

*terium*, *Corynebacterium*, *Nocardia*, *Mycobacterium* 속 등의 탄화수소 자화성 세균이 유화능이 강한 type의 glycolipid, trehaloselipid-I을 생산하는 것을 발견하였다(2).

한편 효모는 biosurfactant의 생산량이 매우 높은 것으로 알려져 있는데, 대표적인 biosurfactant 생산 효모로는 탄화수소 자화성 효모로서 당지질계 biosurfactant를 생산하는 *Torulopsis bombicola*(ATCC 22114, KSM 36)가 있다. 이 *Torulopsis bombicola*가 생산하는 sophorolipid는 70~100 g/l 정도의 높은 생산량을 가지고 있어 관심이 주목되어 많은 연구가 이루어져 있다(4, 15). Sophorolipid의 동종(同種) 유도체로서 수소 비자화성 효모인 *Candida bogoriensis*에서 생산되는 long chain fatty acid의 구조가 다른 sophorolipid-II가 있고, 이 밖의 *Candida*속 등 몇 종류의 효모에서 생산되는 biosurfactant가 알려져 있다(3). 이와 같이 생물계에는 여러 모양의 계면활성물질이 존재하지만, 그 대부분 생산량이 적고 분리가 곤란하여 응용 개발이 늦어지고 있다.

본 연구는 전편(16)에서 분리 동정된 *Rhodotorula muciliginosa* G-1에서 생산되는 biosurfactant의 분리 정제 및 기본적인 물성에 관한 연구를 하였다.

**Key words:** Biosurfactant, glycolipid, *Rhodotorula muciliginosa*

\*Corresponding author

## 재료 및 방법

### Biosurfactant의 조성 및 성질분석

Thin layer chromatography(TLC) Silica gel G, Silica gel G F<sub>254</sub> plate(Merk Co.)를 이용하여 각종의 전개용매에서 전개하였다.

**각종의 생화학반응** 생화학반응은 Stahl의 TLC 발색법을 이용하였다(5). 당의 발색시약은 10% etanolic sulfuric acid, anthron,  $\alpha$ -naphthol-sulfuric acid, orcinol-sulfuric acid를 사용하였고 amino acid 발색은 ninhydrin, lipid 발색은 lodamin 6G를 이용하였다.

**분자량의 측정** 정제된 biosurfactant를 Sephadex LH-20 column(1.5  $\phi$  × 100 cm)에서 20 ml/hr의 유속으로 용출시켜 분자량 600, 1000, 4000, 6000, 8000인 polyethyleneglycol (PEG)과의 분리속도를 비교하여 분자량을 측정하였다.

### Biosurfactant의 농도 측정

Biosurfactant의 절대량 측정은 Chaplin과 Kennedy의 phenol-sulfuric acid method에 의하여 측정하였다(6). Standard glycolipid와 control solution에 200  $\mu$ l의 5% phenol solution(W/V)을 첨가하고 2 ml의 진한 황산을 첨가한 후 100°C에서 10분간 가열하여 발색된 정도를 spectrophotometer 625 nm에서 측정하였다. 배양 broth내에서의 절대량 측정은 methyl ethyl ketone으로 glycolipid를 추출하여 측정하였다.

### Biosurfactant의 물성측정

**기포력의 측정** 기포력의 측정은 한국공업표준규격의 합성세제 시험방법(7)의 기포력 측정방법을 이용하여 측정하였다. 시료수용액 200 ml을 99 cm의 높이에서 30초간 낙하시켜 용액이 모두 유출된 후 즉시 거품의 양(눈으로 본 높이 mm)을 측정하여 4회 측정값 평균을 정수자리까지 구하여 거품 발생력으로 정하였다.

**Decay constant의 측정** Decay constant( $K_d$ )는 Cirigliano와 Carman의 방법(8)을 이용하여 0.1% 농도의 시료용액 5 ml에 500  $\mu$ l의 각종 oil을 첨가하고 200 rpm에서 2분간 왕복진탕 후 10분간 정지하고 10분 간격으로 50분 동안 540 nm에서 흡광도를 측정하고 시간에 대한 흡광도의 log값을 그려 기울기(decay constant)를 구하였다.

**분산력의 측정** 분산력의 측정은 Kim과 Kim의 방법(4)에 준하여 100 ml mass cylinder에 각각 0.3 g의 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>를 넣고 시료 혹은 증류수(control)를 100 ml 채

웠다. 일정 속도로 각 mass cylinder를 흔들어 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>를 골고루 분산시킨 후 일정시간 세워두고 Mass cylinder내 현탁물의 20 ml 밑부분에서 2 ml 씩 취하여 25 ml의 증류수로 희석시킨 후 660 nm에서 흡광도를 측정한다.

**유화도의 측정** 유화도의 측정은 Zuckerberg 등(9)의 방법으로 다음과 같이 측정하였다. Hexadecane과 2-methyl naphthalene 동량 혼합물 0.1 ml에 시험액 2.5 ml을 첨가하고 50 mM Tris-HCl buffer 7.4 ml로 pH를 8.0으로 조절하였다. 이 반응액을 150 rpm, 25°C, 1시간의 왕복진탕 운동으로 흔들어 준 후, 10분간 정지한 다음 620 nm에서 흡광도를 측정하고 유화도로 환산하였다. OD<sub>620</sub> 값 0.1을 유화제 활성단위 1로 정하고 이를 기준으로 비교하였다.

**세정력의 측정** 한국공업규격의 합성세제 시험방법(7) 중 주방용 합성세제의 세척력 측정방법을 변형하여 실험하였다. 기준 오염욕(유지와 대두유를 부피비 1:1로 혼합한 유지 20 g, monoolein 0.25 g 및 oilred 0.1 g을 동시에 chloroform 60 ml에 녹임) 일정량을 유리편에 부착시킨 후 계면활성제 시료액속에서 150 rpm, 3분간 진탕시켜 오염을 제거한 후 남아 있는 오염을 500 nm에서 흡광도를 측정하여 세척된 오염을 측정하였다. 표준 곡선에서 O.D. 값당 오염의 농도를 구하여 계산하였다.

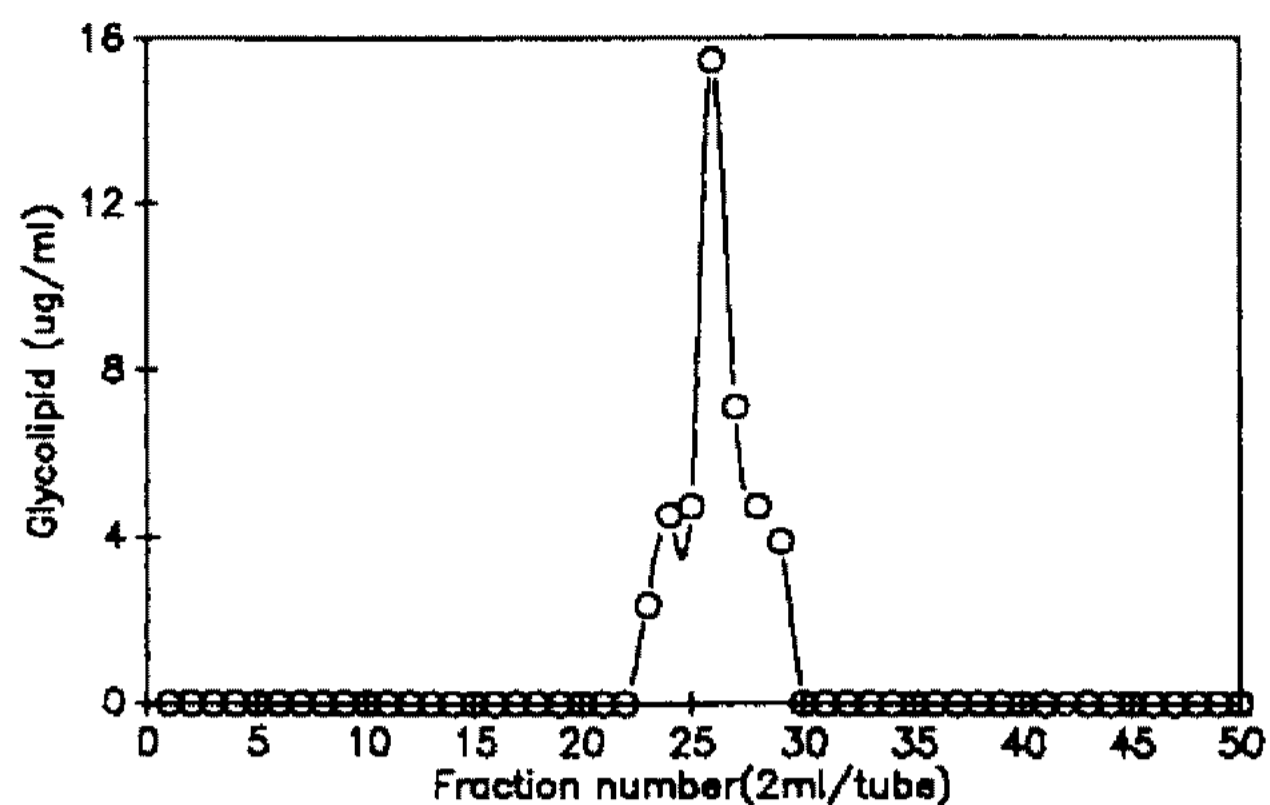
## 결과 및 고찰

### Biosurfactant 물질의 분리

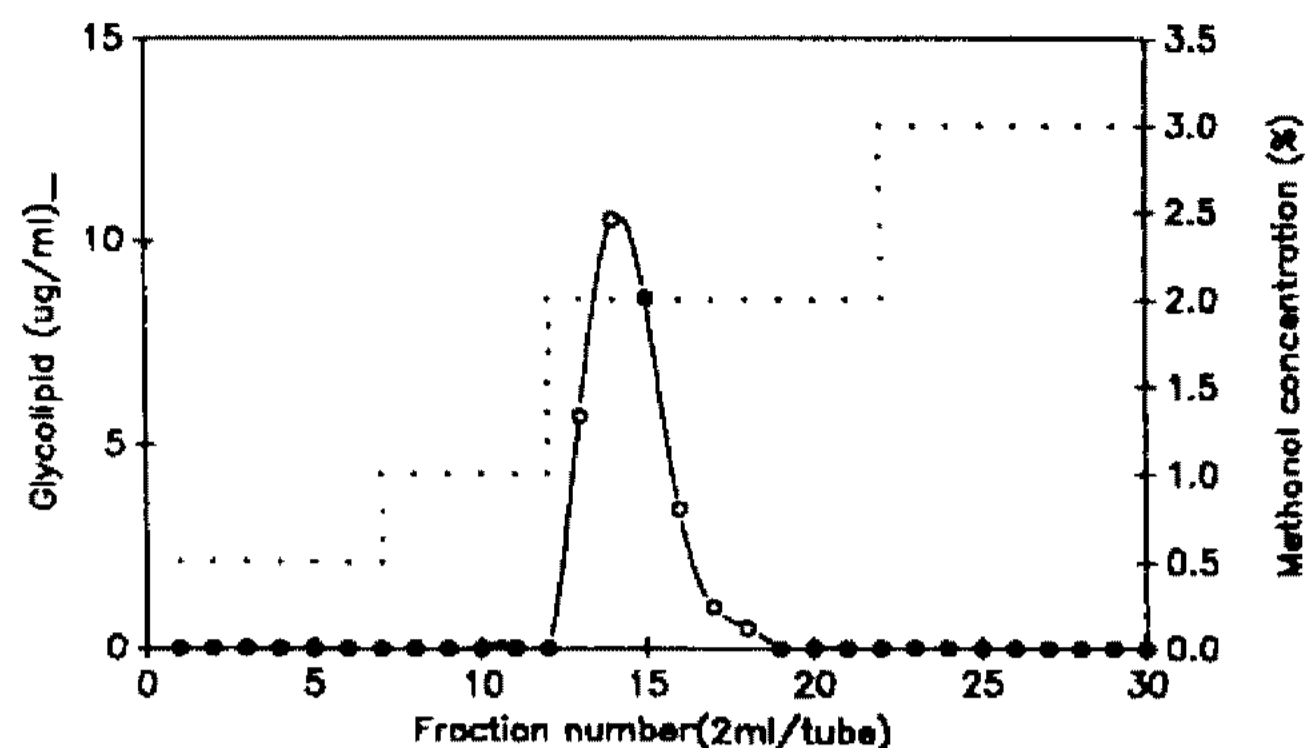
**Crude biosurfactant의 분리** 원심분리한 배양상 등액에 HCl을 첨가하여 pH 2~3으로 조정한 후 여기에 glycolipid 분리에 주로 사용되고 있는 ethylacetate를 동일 volume 첨가하였다(4). 자석교반기를 이용하여 저온에서 12시간 진탕한 후 원심분리하여 유기용매 층만을 취하였다. 이 과정을 2~3회 반복하고 rotary evaporator를 이용하여 유기용매를 감압 증류하여 끈끈한 액상의 점질물을 얻었다.

잔류하고 있는 vegetable oil을 제거하기 위하여 주로 극성이 낮은 중성 lipid의 분리에 사용되는 *n*-Hexane으로 2회 세척한 후 남은 부분을 재차 evaporation 하였다. 이 과정에서 나온 최종 물질을 crude biosurfactant로 하여 냉장 보관하고 시료로 사용하였다.

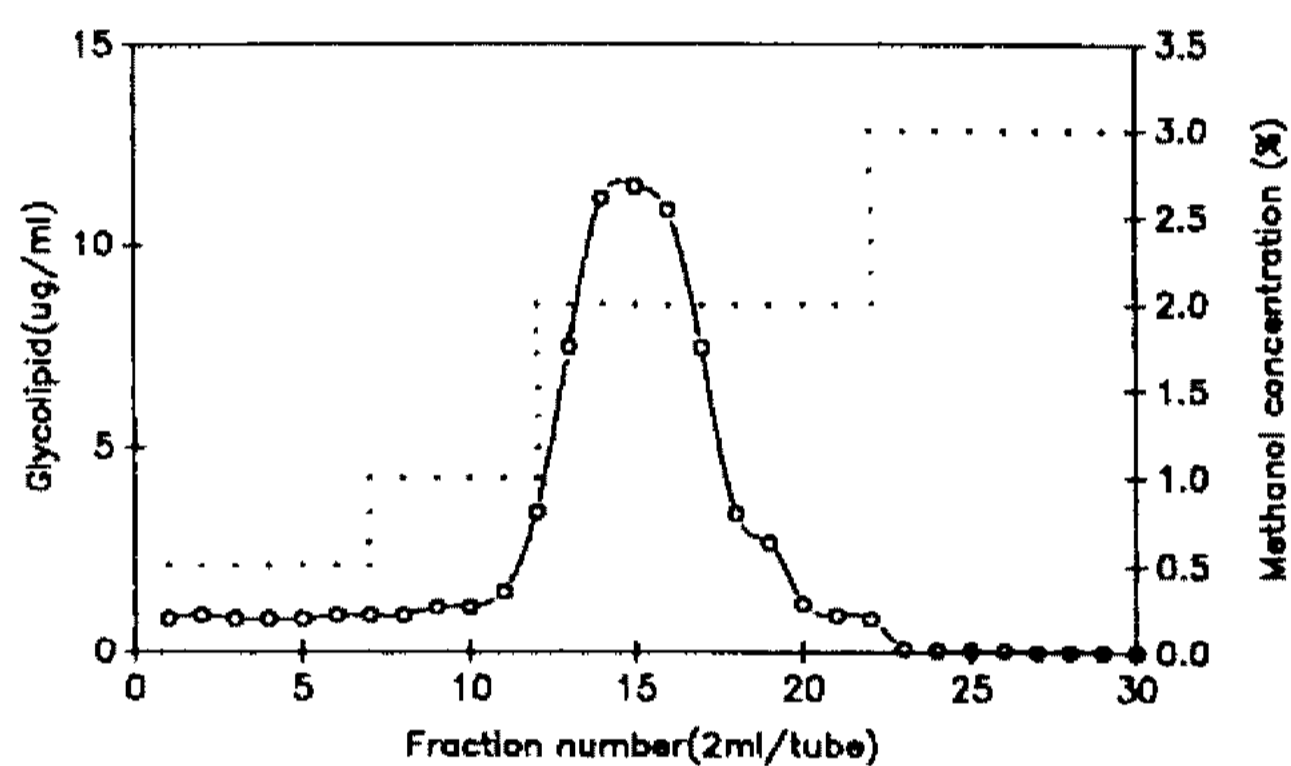
**Silica gel column chromatography(1st)** 위에서 얻은 시료를 chloroform에 용해시킨 후 chloroform으로 충전된 Silica gel column에 흡착시켰다. Singer와 Finnery은 Silica gel column chromatography 상



**Fig. 1. Elution diagram of 1st silica gel column chromatography.**  
Column was eluted with acetone.



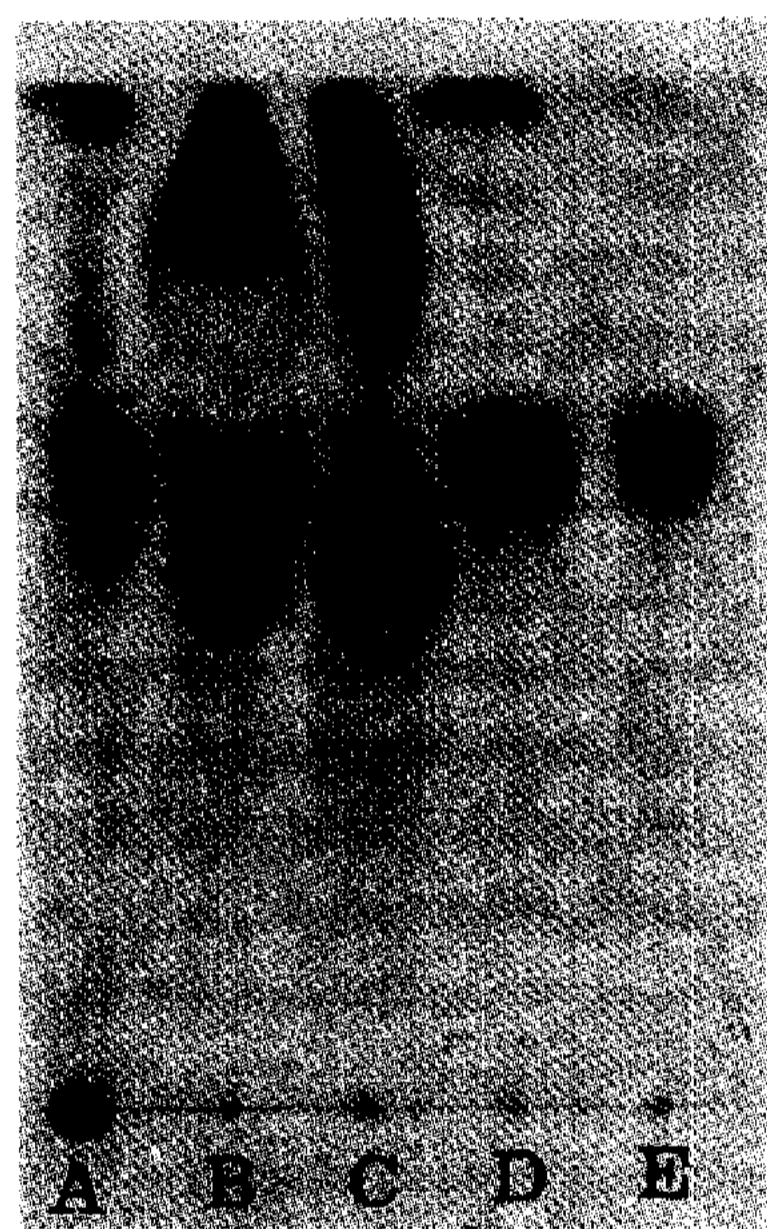
**Fig. 3. Elution diagram of 3rd silica gel column chromatography.**  
Column was eluted with  $\text{CHCl}_3$ : methanol.  
Line: (.....) methanol concentration.



**Fig. 2. Elution diagram of 2nd silica gel column chromatography.**  
Column was eluted with  $\text{CHCl}_3$ : methanol.  
Line: (.....) methanol concentration.

에서 acetone fraction으로 glycolipid만을 선택적으로 분리할 수 있다고 보고하였다(10). 따라서 흡착된 crude biosurfactant에서 중성물질인 lipid를 제거하기 위하여 2 bed volume chloroform으로 비극성의 물질을 washing한 후 이어서 acetone으로 50 ml/hr 용출하였다. 이때 fraction No.의 23~30부위를 모아서 감압 농축하였다(Fig. 1).

Silica gel column chromatography(2nd) 위에서 얻은 acetone fraction을 모아 Silica gel column에 흡착시켰다. 이것을 약 3 bed volume chloroform으로 washing한 후 chloroform과 methanol을 stepwise법에 의하여 methanol의 비율을 0.5% 씩 증가시키며 용출하였다. 그 결과 chloroform과 methanol의 비율이 98 : 2에서 주요한 활성부위가 모두 용출되었다. 그러나 강하게 결합되어 있는 중성의 lipid 부분에 의하여 graph 상에서 굴곡진 부위가 나타났다(Fig. 2). 이러한 부위를 제거하기 위하여 재차 Silica gel chromatography를 하였다.



**Fig. 4. TLC of biosurfactant purification procedure.**  
Solvent system was  $\text{CHCl}_3$ :  $\text{CH}_3\text{OH}$ : 5 M  $\text{NH}_4\text{OH}$  (65: 35:5) and detection was done with 10% phenol sulfuric acid in methanol.  
Lane: culture broth (A); crude extract (B); 1st Silica gel column chromatography (C); 2nd Silica gel column chromatography (D); 3rd Silica gel column chromatography (E).

Silica gel column chromatography(3rd) 2nd Silica gel column chromatography에서 활성을 가진 fraction No.13~22를 모아 감압 증류한 후 다시 Silica gel column chromatography에 흡착시켰다. 3 bed volume chloroform으로 washing한 후 chloroform과 methanol의 stepwise 법으로 용출하였다(Fig. 3). Chloroform과 methanol의 비율이 99 : 1에서 주요활성 부위가 모두 용출되어 최종적으로 정제된 biosurfactant를 얻었다. 이것은 Fig. 4의 TLC에서 확인할 수

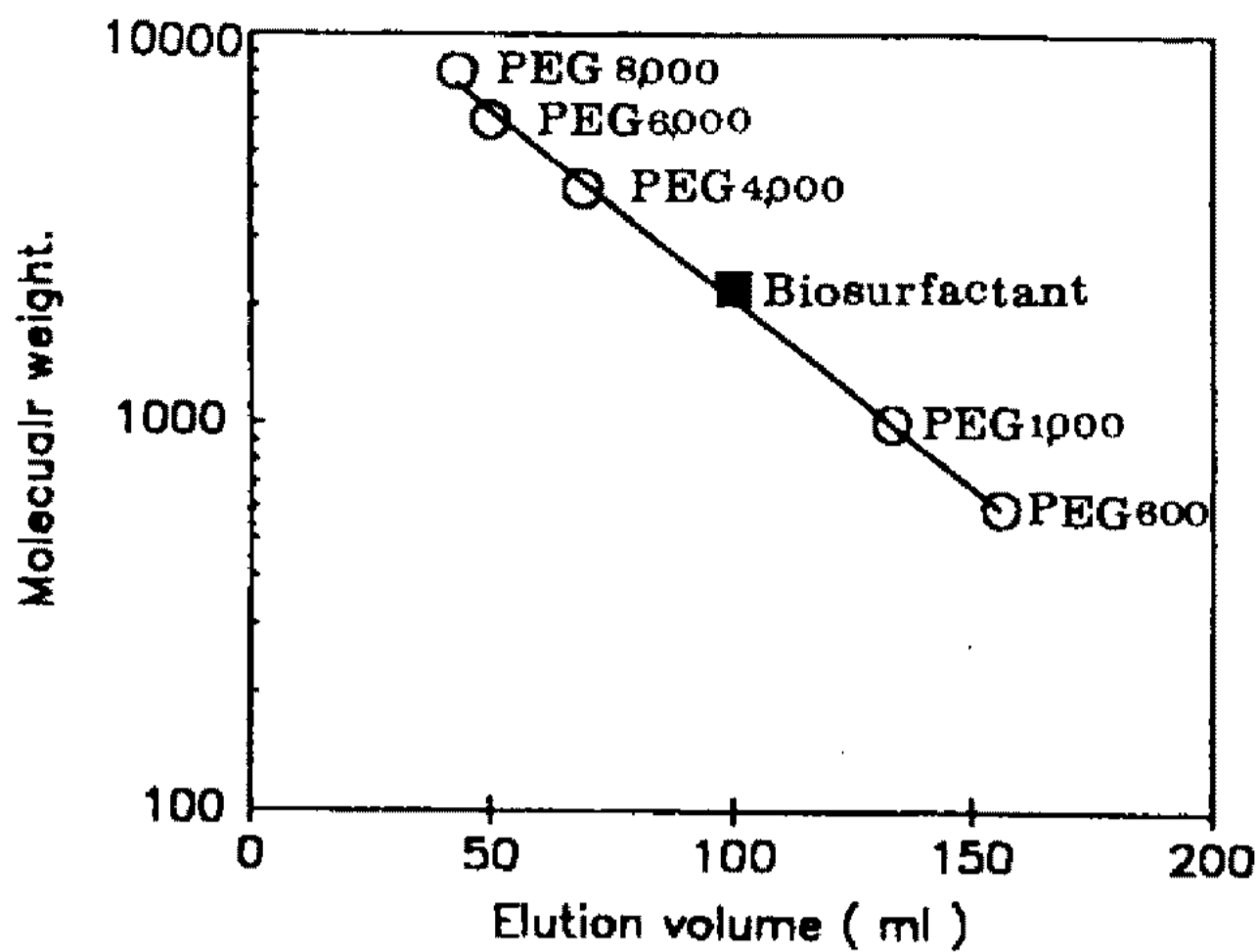


Fig. 5. Estimation of molecular weight of biosurfactant by using Sephadex LH-20 column chromatography.

있었다. Fig. 4는 정제 과정의 각 단계에서의 biosurfactant 정제 정도를 나타낸 것이다.

**Molecular weight의 결정** 정제된 biosurfactant를 Sephadex LH-20 column(1.5×60 cm)에서 90% methanol로 20 ml/hr의 유속으로 용출시켰다. 분자량 8000, 6000, 4000, 1000, 600인 PEG와의 분리속도를 비교하여 PEG 기준 분자량을 측정하였다(Fig. 5). 정제된 biosurfactant는 PEG 기준 분자량이 1,500인 당지질로 추정되며 이것은 Itoh와 Inoue가 보고(12)한 *Torulopsis bombicola*에서 생산되는 분자량 600~900인 glycolipid의 분자량과 유사하였다. 앞에서 행한 biosurfactant의 분리 및 분석결과를 종합하면 다음과 같다. Crude biosurfactant에서 분리한 biosurfactant는 본 연구에서 분리된 TLC 분석결과 분자량 약 1,500인 carbohydrate와 fatty acid를 함유한 물질로 추정된다. 이는 이제까지 보고된 *Torulopsis bombicola*에서 생산되는 glycolipid와 같은 결과이다. 이 glycolipids는 sorbose 계통으로 sorbose와  $\beta$ -hydroxydecanoic acids의 조합에 의하여 구성되어 있다고 보고되었다(2).

#### Biosurfactant의 조성 및 기본 성질

**용해도** 정제된 biosurfactant의 물에 대한 용해도를 조사하기 위하여 1%의 농도로 각각의 용매에 녹여 육안으로 관찰하여 그 용해도를 판별하였다(Table 1). 그 결과 ethyl acetate, methanol, butanol, isoamyl alcohol, chloroform에는 잘 녹았으며, acetone, benzene, toluene, isopropyl alcohol에서는 분산되는 상태였고 *n*-hexane, isooctane, ethyl ether에서는 잘 녹지 않았다. 물에는 어느 정도(5%)의 농도 이상으로는 잘 용해되지 않았다. 이러한 결과는 Rosen-

Table 1. Solubility of biosurfactant

Solvent	Solubility
Benzene	ID
Ethylether	I
Cyclohexane	D
Isopropyl alcohol	D
Ethylacetate	S
<i>n</i> -Hexane	I
Acetone	D
2,4-Trichloropentane	I
Water	WS
Methanol	S
Butanol	S
Isoamyl alcohol	S
Tolulene	ID
Xylene	ID
Chloroform	S
Trichloroethylene	I

ID: insoluble but disperse, S: soluble, I: insoluble, WS: weak soluble

Table 2. Comparion with Rf value

Solvent ssystem	Rf
CHCl <sub>3</sub> :CH <sub>3</sub> OH:5 M NH <sub>4</sub> OH (65:35:5)	0.78
Hexane:isopropyl alcohol:CH <sub>3</sub> OH (70:35:15)	0.48
Hexane:isopropyl alcohol:acetic acid (15:10:1)	0.1
CHCl <sub>3</sub> :acetone:CH <sub>3</sub> OH:acetic acid:H <sub>2</sub> O (7:8:2:2:1)	0.19
CHCl <sub>3</sub> :CH <sub>3</sub> OH:H <sub>2</sub> O (65:25:4)	0.5
CHCl <sub>3</sub> :CH <sub>3</sub> OH:acetic acid:H <sub>2</sub> O (25:15:4:2)	0.31

berg와 Perry(11), Itoh와 Inoue(12)의 보고와 일치하였는데 이로 미루어 소수성 부위와 친수성 부위를 동시에 지니고 있는 것으로 생각된다.

**Thin layer chromatography(TLC)** 각 solvent system에 대한 Rf의 차이를 조사한 결과 Table 2의 결과와 같이 비극성 용매 비율이 대체로 높은 solvent system 하에서 Rf값이 높게 나타남으로 분리된 biosurfactant는 극성이 낮은 물질임을 알 수 있었다. 통상적으로 biosurfactant의 확인에 이용되고 있는 chloroform : methanol : 5 M ammonia water = 65 : 35 : 5에서는 0.7의 Rf를 나타내었다. 이러한 결과는 Kitamono와 Akiba(13)의 *Candida antarica*에서 위와

**Table 3. Identification of biosurfactant**

Detection	Substance	Result
Phenol-sulfuric acid		+
$\alpha$ -Naphthol-sulfuric acid		+
10% Sulfuric acid		+
Iodine vapor	carbohydrate	+
Orcinol-sulfuric acid		+
Bromocresol-green		+
Anthron		+
Rodamin 6G	lipid	+
Ninhydrin	amino acid	+ w

+: Positive, + w: weak positive

동일 solvent system을 사용하였을 경우 biosurfactant MEL-A의 Rf 0.77과 유사하였고, Hideki와 Macdonald(14)의 mutant *Candida* sp.에서의 biosurfactant Rf 0.85와는 약간 상이하였다.

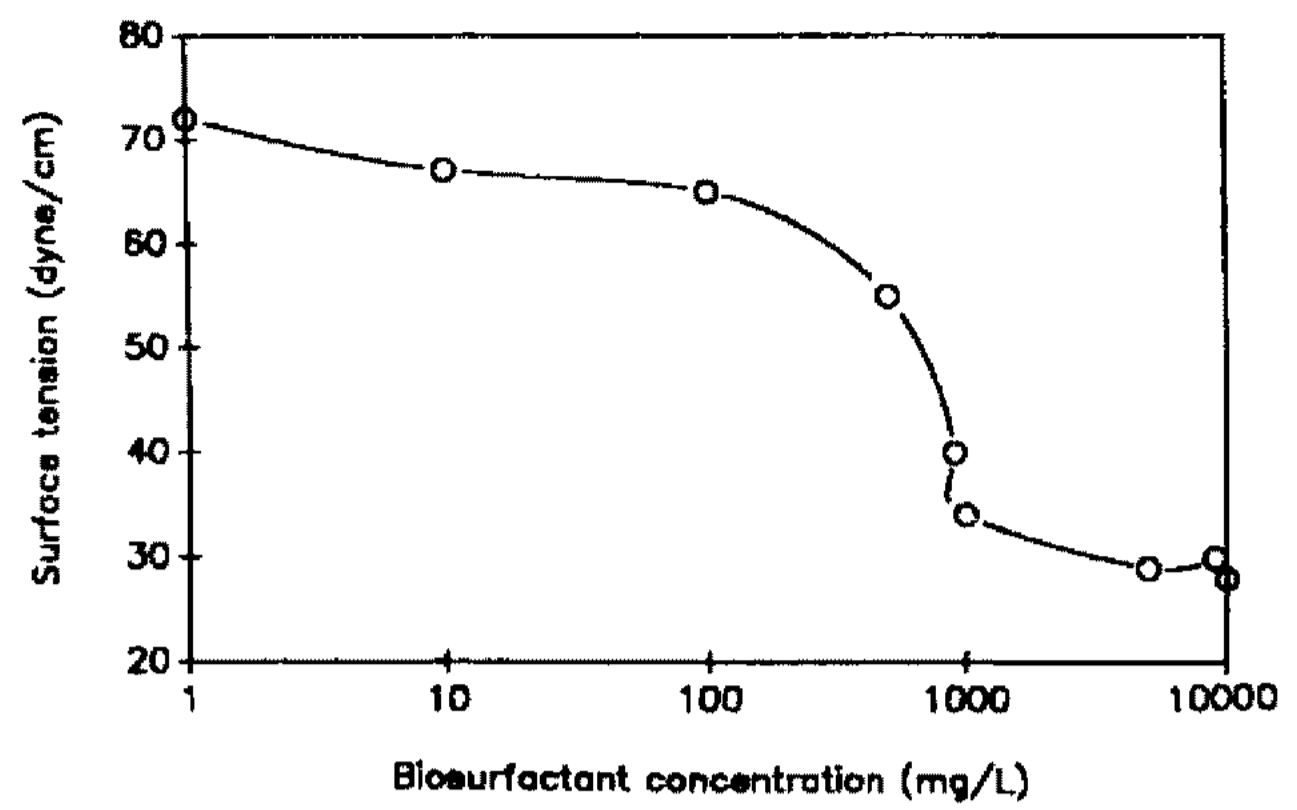
**생화학 반응** Silica gel G, Silica gel G F<sub>254</sub> plate를 이용하여 CHCl<sub>3</sub> : CH<sub>3</sub>OH : 5 M NH<sub>4</sub>OH(65 : 35 : 5)의 전개용매에서 전개하였다. 그 결과 Rf 0.78인 주요 물질은 phenol-sulfuric acid,  $\alpha$ -naphthol sulfuric acid, sulfuric acid, iodine vapor, orcinol-sulfuric acid의 당의 선택적인 발색반응에서 양성반응을 보였으며, Rodamin 6G에 의한 lipid 발색에서 U.V에 형광색으로 발색하는 양성반응을 보였고, ninhydrin에는 미약한 양성반응을 나타내었다(Table 3).

따라서 이 물질은 유사한 구조의 당을 포함하는 산성물질로 추정되었다. 이는 Itoh 등(12)이 보고한 *Torulopsis bombicola*에서 생산되는 두가지 glycolipids의 Rf(=0.8)와 TLC 상에서의 anthrone, phenol-sulfuric acid, bromocresol-green, ninhydrin 반응 결과와 유사하였다.

**Biosurfactant의 특성**

**농도에 따른 표면장력의 변화** Crude biosurfactant와 분리한 물질을 1 mg/l~10 g/l의 농도로 변화시켜 가면서 표면장력의 변화를 비교하였다(Fig. 6). 최저 표면장력은 crude biosurfactant의 경우 38 dyn/cm, 정제된 물질은 29 dyn/cm이었다. 이러한 수치는 *Candida apicola*에서 생산되는 biosurfactant의 21 (dyne/cm)에 비해서는 높은 수치이나 *Torulopsis glabrata*에서 생산되는 biosurfactant 39(dyne/cm)보다는 낮은 수치이다.

**pH의 변화에 의한 표면장력의 영향** Biosurfactant



**Fig. 6. Effect of concentration on biosurfactant tension.**

**Table 4. Stabilization of substrate by biosurfactant**

Substrate	Decay constant (K <sub>d</sub> )		Difference
	Without BS	With BS	
Soybean oil	-5.2	-0.8	4.40
Olive oil	-3.2	-0.82	2.38
Crude oil	-7.8	-1.48	5.32
Hexadecan	-8.4	-3.4	5.00
Kerosen	-10.7	-6.5	4.10

0.1%(w/v) 용액의 pH 변화에 따른 표면장력 변화를 조사하였다. 결과는 pH가 감소하면서 활성의 감소를 나타내었다. Biosurfactant는 친수성기로 당과 carboxyl기를 가진 glycolipid로, 보고된 바와는 glycolipid 계열의 biosurfactant는 친수성인 당과 carboxyl기가 분자 양쪽에 위치한다(13). 그러므로 pH가 저하되면 carboxyl기의 수소이온이 해리되기 어려워지고, 한쪽의 친수성기만이 남게 되어 표면장력이 감소하는 결과를 초래하게 된다고 사료된다. pH가 증가하게 되면 활성이 점차적으로 증가하고 따라서 표면장력이 낮아진다.

**Biosurfactant 첨가에 의한 유화 안정도의 증가**

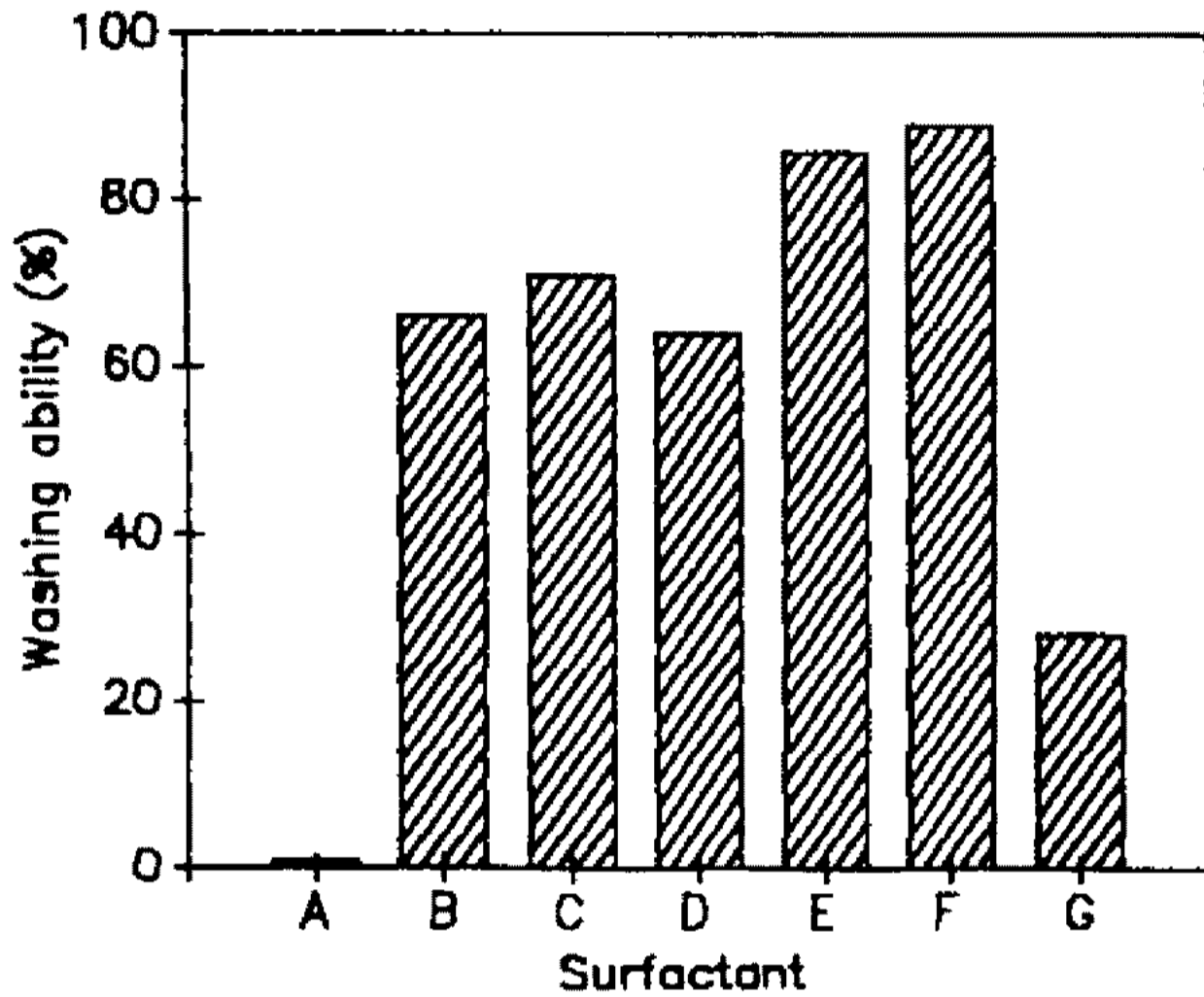
Biosurfactant가 soybean oil, olive oil, kerosene, hexadecane의 유화안정도에 끼치는 영향을 조사하였다(Table 4). 이 K<sub>d</sub> 값은 유화도의 시간에 대한 변화의 기울기로 10<sup>-3</sup>의 수치로 나타낸다. 이 기울기가 작을수록 유화도의 변화가 적고 안정도는 높다고 볼 수 있다. 여러 oil들 중에서 soybean oil에 있어서의 biosurfactant 첨가에 의한 유화안정도가 가장 높았다.

**기타 계면활성제와의 비교**

분리한 biosurfactant의 계면활성제로서의 일반 특성을 이해하기 위하여 Diocetyl sulfsuccinate(AOS),

**Table 5. Surfactant surface tension**

Surfactant	Surface tension (dyne/cm)
AOS	37
Tween 20	42
Span 80	21
Sale detergent	35
Standard detergent	49
Biosurfactant	38



**Fig. 7. Washing ability of each surfactant.** Line: water (A); AOS (B); Tween 20 (C); Span 80 (D); Sale detergent (E); Standard detergent (F); biosurfactant (G).

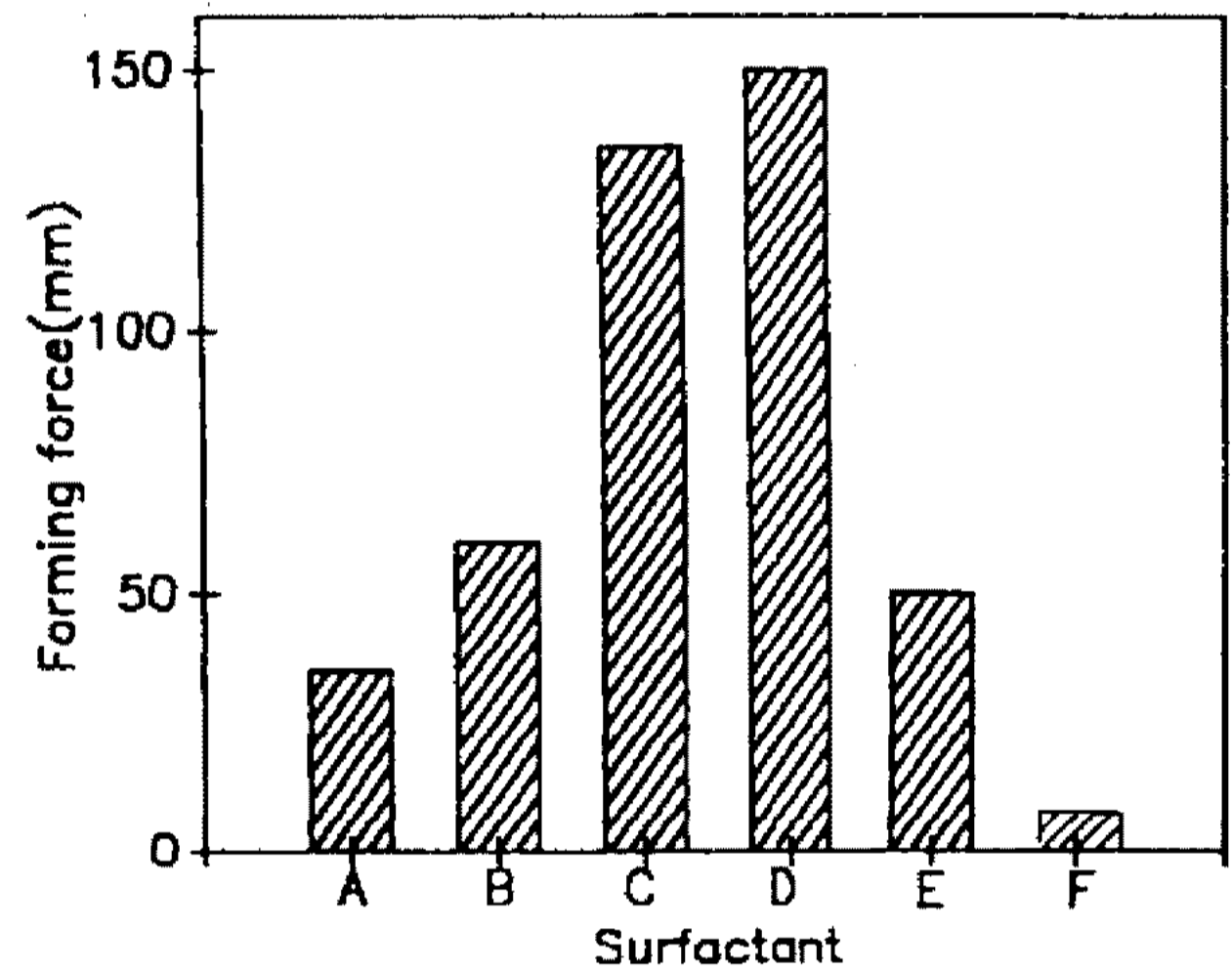
Tween 20, Span 80 등의 계면활성제와 시판 중인 세제, 공업규격의 세척력 시험 공시세제를 비교시료로 선택하였다. AOS는 대부분의 세제류에 들어가는 주 계면활성제이고 Tween은 유화능이 강한 계면활성제, Span은 식품유화제로 사용되고 있는 계면활성제와 시판세제와 세척력 시험 공시세제는 계면활성제와 여러 물질들이 함유되어 있는 복합물질이다. 이 시료들을 50 mM Tris-HCl(pH 8.0)에 녹여 0.1%(w/v) 용액을 만든 후 각 계면활성제 특성을 비교하였다. 시료 biosurfactant는 crude biosurfactant를 사용하였다. 계면활성제 특성 중에서 표면장력, 유화안정도, 기포력 등을 비교하였다.

**표면장력** 물의 표면장력(약 72 dyn/cm)을 100%로 하였을 때 각기 시료의 농도를 0.1%로 고정하고 각 시료의 표면장력을 나타냈다(Table 5). Tween 20과 세척력 공시세제를 제외하고 그 외의 시료는 biosurfactant에 비하여 낮은 표면장력을 나타냈다.

**세척력** 각 시료의 세척력은 증류수를 0%로 기준하여 세척력 %로 나타냈다(Fig. 7). 각 시료의 세척력

**Table 6. Difference of soybean oil emulsion by surfactants**

Substrate	Decay constant ( $K_d$ ) ( $10^{-3}$ )		Difference
	Without sample	With sample	
AOS*	-6.0	-	-
Tween 20	-6.0	-5.0	1
Span 80	-6.0	-4.5	2.5
Sale detergent	-6.0	-10	-
Standard detergent	-6.0	-3.0	3
Biosurfactant	-6.0	-1.2	4.8



**Fig. 8. Forming force of each surfactant.** Line: AOS (A); Tween 20 (B); Span 80 (C); Sale detergent (D); Standard detergent (E); biosurfactant (F).

은 AOS가 66%, Tween 20이 71%, 시판세제가 86%, 세척력 공시세제가 89%, biosurfactant가 28%이었다. 다른 시료에 비하여 biosurfactant의 세척력은 비교적 낮은 정도를 나타냈다. Kim과 Kim은 *Candida* sp.에서 생산되는 biosurfactant의 세척력이 거의 없다는 보고(4)를 하였는데 본 연구에서 분리된 biosurfactant는 어느 정도의 세척력이 있었다. 그러나 다른 합성계면활성제에 비하여 적은 수치를 나타내었다.

**유화안정도** 각 시료의 soybean oil에 대한 유화안정도를 비교하였다(Table 6). 각 시료의  $K_d$  값은 Tween 20이 -1, Span 80은 -2.5, 세척력 공시세제는 -3, biosurfactant는 -4.8 등으로 biosurfactant에 대한 유화안정도가 다른 화학계면활성제에 비하여 우수하였다. 이러한 성질을 이용한 유화제 개발 가능성이 높다고 할 수 있다.

**기포력** 각 시료의 기포력을 unit로 표시하였다(Fig. 8). 각 시료의 기포력은 AOS가 136, Tween이

20은 35, 시판세제가 150, 세척력 공시세제가 50, biosurfactant가 0.2% 수용액은 4였다. 전체 시료와 비교할 때 biosurfactant의 기포력은 거의 없다고 판단되었다. Kim과 Kim은 *Candida* sp.에서 생산되는 biosurfactant의 기포형성력이 없다는 보고(4)를 하였는데 이와 유사한 결과였다. 실제로 발효조에서도 많은 biosurfactant가 생성되어도 거품이 일어나지 않는 것이 관측되었다. 이 경우 0.2% biosurfactant 수용액의 표면장력이 38 dyne/cm의 낮은 표면장력임에도 불구하고 거품이 형성이 안되는 현상을 보여 주고 있어 표면장력의 저하가 반드시 거품을 형성한다고는 볼 수 없다. 거품의 형성은 세척력과 무관한 것으로 알려져 있으며 최근 거품이 일어나지 않는 세제개발이 진행되고 있다. 또한 하천에서 세제의 사용으로 인하여 거품이 형성되는 것은 햇빛 및 공기와의 접촉을 차단하여 수중 생태계에 악영향을 끼치는 것으로 알려져 있어 오히려 기포가 발생하지 않는 계면활성제를 선호한다고 할 수 있는데 이러한 성질 등을 응용한 상품개발의 가능성이 높다고 할 수 있다.

## 요 약

*Rhodotorula muciliginosa* G-1에서 분리한 biosurfactant의 분리, 정제를 한 결과 TLC 상에서 0.78의 Rf 치를 갖는 단일물질을 얻을 수 있었고 분자량을 측정된 결과 분자량이 1,500 가량 되는 glycolipid였다. 이 물질은 n-hexane에는 용해되지 않았으며, chloroform, methanol, ethylacetate 등에는 잘 용해되었다. 물리적인 성질을 조사한 결과 기존의 화학계면활성제에 비하여 세척력은 떨어지나 유화력, 분산력은 좋았다.

## 참고문헌

1. Kasaric, N. and W.L. Carins. 1987. *Biosurfactant and biotechnology*, Pp. 1-120. Marcel Dekker Inc.
2. Cooper, D.G. and J.E. Zajic. 1988. Surface-Active Compound from Microorganism. *Advances in Applied Microorganism*. **26**: 229-253.

3. Suzuki, T. 1980. Growth on N-Alkanes Inhibition by the lactonic Sophorolipid produced by *Torulopsis bombicola*. *Agri. Biol. Chem.* **44**(9): 2221-2223.
4. Kim, W.K. and E.K. Kim. 1992. Application of Biosurfactant produced from *Candida bombicola*. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **7**: 107-111.
5. Egon Stahl. 1969. Thin-layer chromatography. *Carbohydrate*. Pp. 420-498. Marcel Dekker Inc. 2nd edition.
6. Chaplin, M.F. and J.F. Kennedy. 1992. Carbohydrate analysis a practical approach. *Monosaccharide*, Pp. 1-8. IRL Press.
7. 한국공업규격 합성세제 시험법. 1991. KSM 2707, 한국공업표준협회 발행 KSM2709 Pp. 1-59.
8. Cirigliano, M.C. and G.M. Carman. 1885 Purification and Characterization of Liposan, a Bi-emulsifier lipolitica. *Appl. Environ Microbiol.* **45**: 846-850.
9. Zucherberg, A., A. Diver, and Z. Peeri. 1979. Emulsifier of *Arthrobacter* RAG-1: chemical and physical properties. *Appl. Environ. Microbiol.* **37**: 414-420.
10. Vogt Singer, M.E. and W.R. Finnery 1990. Physiology of Biosurfactant synthesis by *Rhodococcus* species H13-A. *Can. J. Microbiol.* **36**: 741-745.
11. Rosenberg, E. and A. Perry. 1979. Emulsifier of *Arthrobacter* RAG-1. Specificity of Hydrocarbon Substrate. *Appl. Environ. Microbiol.* **37**: 409-413.
12. Itoh, S. and S. Inoue. 1979. Sophorolipids from *Torulopsis bombicola* Possible Relation to Alkane Uptake. *Appl. Environ. Microbiol.* **43**(6): 1278-1283.
13. Kitamoto, D. and S. Akiba. 1990. Extracellular Accumulation of Mannosyl erythritol lipids by a strain of *Candida antarctica*. *Agri. Biol. Chem.* **54**(1): 31-36.
14. Hedeki, A. and C.R. Macdonald. 1981. Surface-Active Lipids from *Nocardia erythropolis* Grown Hydrocarbons. *Appl. Environ. Microbiol.* **35**: 117-123.
15. Cooper, D.G. and D.A. Paddock. 1984. Production of biosurfactant from *Porulopsis bombicola*. *Appl. Environ. Microbiol.* **47**(1): 173-176.
16. 강상모, 이철수. 1994. Biosurfactant를 생산하는 효모 *Rhodotorula muciliginosa* G-1의 분리 및 biosurfactant 생산. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 투고중.

(Received 25 November 1994)